飼料中中性デタージェント繊維（NDF）の簡易推定法

平柳恵子・安藤義昭[1]・小柳　渉

新潟県農業総合研究所畜産研究センター
現所属：[1]三条地域振興局農業振興部

A Simple Method for the Estimation of Neutral Detergent Fiber

Keiko HIRAYANAGI, Yoshiaki ANDOU and Wataru OYANAGI

Niigata Agricultural Research Institute Livestock Research Center
[1]Sanjo Regional Promotion Bureau Agricultural Promotion Department

キーワード　NDF，簡易推定法

要　約　専用機器を持たない普及指導機関等で飼料中の中性デタージェント繊維（NDF）を簡易迅速に推定する手法を開発した．開発した簡易推定法は，風乾試料を食品用ミルで粉砕し，保存ビン内で簡易中性デタージェント（ND）溶液に浸して10分間煮沸して脱気し，保存ビンを密閉後圧力鍋で40分間加圧・加熱した後，コーヒーフィルターでろ過し，電子レンジでの乾燥，ガスコンロでの灰化を行うことで迅速にNDFを推定できる方法である．また，デンプンを含む試料も保存ビン内に耐熱性α-アミラーゼ（SIGUM社製 Product-No.A3306）を添加することで推定できる．

本法の推定値と常法の分析値との標準誤差は風乾物当たり粗飼料で1.8%，濃厚飼料で3.4%，乾物当たり粗飼料で2.1%，濃厚飼料で3.6%と飼料のNDF含量の簡易推定法として利用可能な精度で推定できる．所要時間は約160分であり，常法の約2日間に比べ非常に短く操作も容易である．

飼料の評価に利用される成分の一つであるNDF含量は牛の採食性に影響するため，特に乳牛では適正範囲内とすることが重要である（(独)農業・食品産業技術総合研究機構編2006）．しかし，常法では専用の機器または繊維自動抽出装置等が必要であり，全操作には約2日間を要する（自給飼料品質評価研究会編2001）．さらに，デンプンを含む飼料の分析にはアミラーゼ処理のため，別途40℃ 16時間の振とう操作が必要となる．

本県において圧力鍋や保存ビンを使った酸性デタージェント繊維（ADF）の簡易推定法が開発されており（安藤と小柳2005），「飼料分析法解説2004」（飼料分析基準研究会編著2004）には耐熱性α-アミラーゼを用いてアミラーゼ処理と繊維抽出を同時に行う中性デタージェント繊維（aNDF）の分析法も示されている．そこで，これらを応用して専用機器や多くの試薬を必要とせず普及指導機関でも活用可能なNDFの簡易迅速な推定法を開発した．

材料及び方法

1. 供試試料

実際に給与されている家畜飼料から，アミラーゼ処理が必要な飼料を含めて以下の合計40点を簡易推定法の開発及び測定精度の検定に用いた．

粗飼料（計33点）（うちアミラーゼ処理9点）：スーダングラス2点，アルファルファ3点，チモシー5点，オーツヘイ2点，ヘイキューブ2点，稲発酵粗飼料4点，わら専用稲2点，稲わら2点，デントコーンサイレージ4点，リードカナリーグラス主体サイレージ2点，イタリアンライグラスサイレージ1点，オーチャード主体サイレージ3点，スーダングラスサイレージ1点

濃厚飼料（計7点）（うちアミラーゼ処理7点）：ビートパルプ1点，圧ペン大豆1点，米ぬか1点，肉用牛肥育用配合3点，乳牛用配合1点

2. 常法によるNDFの測定

NDFの常法値は自給飼料品質評価研究会編（2001）の

方法で測定した．水分が多く粉砕が困難な試料は通風乾燥機で60℃ 18時間乾燥し，室内で24時間放置冷却して予備乾燥を行った．試料の粉砕は粉砕機で1mmの篩を通過する程度に粉砕した後，室内に広げて一晩放置し風乾状態としたものを常法値測定用の試料とした．試料の煮沸，ろ過等には繊維自動抽出装置（Fibertec 2010，フォス・ジャパン，東京）を用いた．

3. 粉砕試料の水分測定

常法および簡易推定法の各方法で粉砕した試料の水分は，135℃ ± 2℃ 2時間乾燥法（自給飼料品質評価研究会編 2001）で測定した．

4. 簡易推定法の開発方針

常法の測定方法及び，酸性デタージェント繊維（ADF）の簡易分析法（安藤と小柳 2005），耐熱性α－アミラーゼを用いた中性デタージェント繊維（aNDF）の分析法（飼料分析基準研究会編著 2004）を基に，高価な専用機器を使わず，使用する試薬をなるべく少量にすることで普及指導機関でも分析可能となるように分析方法の簡易迅速化を行った．

結果及び考察

1. 試料の粉砕方法

水分の多い試料は常法と同様に予備乾燥を行った．その後，粉砕には1mmの篩を通すために常法で用いられる高価な粉砕機を使わずに，安価な食品用ミル（ミルサーIMF－600D，（株）岩谷産業，東京）を用いてできるだけ細かく粉砕した．1回で細かくならない試料は2～4回粉砕した後，広げて放冷したものを簡易推定法用試料とした．
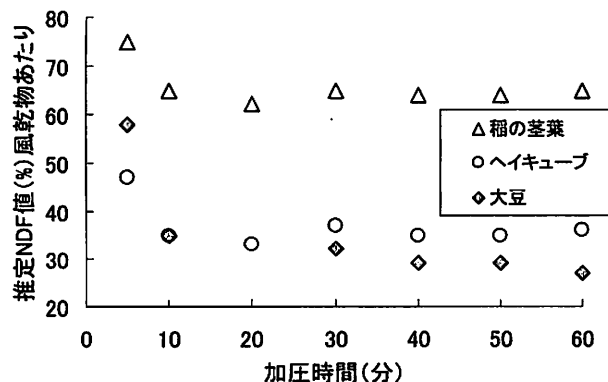
図1 本法による推定NDF値と加圧時間の関係

2. 繊維の抽出方法

(1) 使用する秤の精度

普及指導センターでも分析できるように簡易推定法では最小秤量0.01gの秤を使用することとした．

(2) ADFの簡易推定法の応用

専用機器である繊維抽出装置やガラスろ過器を使わずに試料を煮沸する方法として，ADFの簡易推定法（安藤と小柳 2005）の方法を用い，ホームセンターで安価に購入できる保存ビン（容量150ml：ふたは金属製のスクリューキャップタイプ）と圧力鍋を使用した．また，ろ過も同様にろう斗の代わりにコーヒードリッパー（3～5杯用）をろ紙の代わりにコーヒーフィルター（102，3～5杯用）を利用した（安藤と小柳 2005）．

コーヒーフィルターの乾燥と灰化は，ADFの簡易推定法（安藤と小柳 2005）で用いられている電子レンジによる乾燥と，ステンレス灰皿とガスコンロで灰化する方法を用いることとした．

(3) 圧力鍋による加圧時間の検討

稲の茎葉，ヘイキューブ，大豆で常法のND液を用いて圧力鍋による十分な加圧時間を検討した結果（図1），NDF含量は加圧30分以降にほぼ一定となることから，加圧状態を維持する時間は40分間とした．

(4) 簡易中性デタージェント（ND）溶液の検討

常法で用いるND溶液にはラウリル硫酸ナトリウム，EDTA-2Na，ホウ酸ナトリウム，リン酸2ナトリウム，エチレングリコールモノエチルエーテルが含まれているが，簡易推定法では使用する試薬の数を減らすため，ラウリル硫酸ナトリウム，リン酸2ナトリウムを常法と同量入れ，8.5%リン酸溶液でpH7.0に調整したもの（以下簡

表1 ND液と簡易ND液でそれぞれ測定したNDF値

試料名	ND溶液による NDF値（%）	簡易ND溶液による NDF値(%)
スーダングラスサイレージ	63.1	63.3
アルファルファ（乾草）	39.7	41.2
稲わら	57.4	59.3

表2 耐熱性α-アミラーゼ添加量と煮沸時間

耐熱性α-アミラーゼ 添加量	5分後	10分後
0 μ l	×	×
10 μ l	×	○
20 μ l	△	○
50 μ l	○	○
100 μ l		○
150 μ l		○
200 μ l		○

×：ヨウ素液によるデンプン反応あり
△：ヨウ素液によるデンプン反応ややあり
○：ヨウ素液によるデンプン反応なし

食品用ミル

試料と簡易ND溶液を入れた保存ビン

脱気、アミラーゼ処理のための予備煮沸

コーヒーフィルター

コーヒーフィルターとドリッパーによるろ過

電子レンジでの乾燥

ステンレス灰皿上での灰化

スプーンでの混和

灰分重量の測定

図2　簡易推定法に使用する主な器具類と操作

易ND溶液）を用いることとした．

スーダングラスサイレージ，アルファルファ（乾草），稲わらについて，繊維自動抽出装置を用いたNDF　分析値と，ND溶液を簡易ND溶液に置き換えて得られた値とを比較した（表1）．その結果，簡易ND溶液に置き換えても常法と同等の数値を得ることができたことから，簡易ND溶液を簡易推定法に使用することとした．試料と簡易ND溶液の量は常法と同じく，試料1gに対し簡易ND溶液100mlとした．

(5)　脱気処理，耐熱性α-アミラーゼの添加量及び処理時間の検討

近年，デンプンを含む試料には耐熱性α-アミラーゼを用いる方法が提示されており，試料0.5gに対し耐熱α-アミラーゼ50μlの添加でデンプンの分解効果が得られ，添加量を多くすることによりろ過に要する時間が軽減されるとされている（飼料分析基準研究会編著 2004)．

そこで，簡易法においてもデンプンを含む試料には耐熱性α-アミラーゼを用いることとした．簡易ND溶液を試料に良く染み込ませるための脱気処理として，圧力鍋で高温高圧処理する前に保存ビンを沸騰水中で予備煮沸することとした．また，予備煮沸前に耐熱性α-アミラーゼを添加することで，脱気処理と同時にアミラーゼ処理も行うこととした．そこで，添加する耐熱性α-アミラーゼの量と予備煮沸の時間を検討した．

保存ビンに試薬コーンスターチ1gと簡易ND溶液100mlを入れ，耐熱性α-アミラーゼを0，10，20，50，100，150，200μlをそれぞれ添加し，沸騰水中での予備煮沸開始から5，10分後に溶液を採取しヨウ素液でデンプンの分解度合いを確認した．その結果（表2）から，添加量50μl，煮沸時間5分でもデンプンを分解できると判断した．このことから，耐熱性α-アミラーゼの添加量は最低50μlとし，ろ過しにくい場合は必要に応じて添加量を増加させることとした．予備煮沸の時間は脱気処理を十分に行うため10分間に設定し，デンプンの分解のためのアミラーゼ処理時間もこの10分間で十分と判断した．また，予備煮沸中の簡易ND溶液の温度を測定したところ85～87℃であり，耐熱性α-アミラーゼの酵素活性は十分に保持されていると考えられた．

3. 簡易推定法の手順

以上の検討の結果を基に簡易推定法を開発した．なお，秤は最小秤量0.01gのものを用いる．図2に使用する主な器具及び操作を示す．

以下に手順を示す．

(1) 風乾試料を食品用ミルで，できるだけ細かく粉砕する．1回の粉砕で細かくならないものは2～4回粉砕する．（所要時間の目安：5分）

(2) 試料1g(A)と簡易ND溶液（ラウリル硫酸ナトリウム30g，リン酸水素2ナトリウム・12水和物11.48gを水に溶かし1Lとし，8.5%リン酸溶液でpH7.0に調整）100mlを保存ビン（容量150ml）に入れる．デンプンの多い試料には耐熱α-アミラーゼ（SIGMA社）50μl以上（必要に応じて添加量を増やす）入れる．（所要時間の目安：3分）

(3) ビンのふたを強くしめてから，一ひねりゆるめて空気の抜ける道を作る．圧力鍋に入れ，ビンの肩口まで注水し火にかける（圧力鍋のふたはしない）．沸騰してから10分間弱い沸騰状態を維持し脱気する．（所要時間の目安：15分）

(4) ビンのふたを強くしめ直す．ビンの肩口まで水をつぎ足し，圧力鍋のふたをして火にかける．加圧状態になってから40分間維持する．10分以上放冷後，圧力鍋の加圧状態が解除されたのを確認してからふたを開け，ビンを取り出す．取り出したビンを10～15分間放冷する．（所要時間の目安：70分）

(5) ビンのふたを開け，電子レンジ200Wで乾燥重量(B)を測定したコーヒーフィルターに保存ビンの内容物を水で洗い込み，残さをろ過する．更に水でコーヒーフィルターを2回洗浄ろ過（目安：約40ml×2）する．ろ過しにくいものは熱水で洗浄する．ろ過したコーヒーフィルターをキッチンペーパー等ではさみ軽く脱水する．（所要時間の目安：20分）

(6) 電子レンジでコーヒーフィルターを焦がしたり，燃やしたりしないように注意しながら乾燥する（目安：500W，3分間＋200W，7分間）．湿り気がなくなったら，重量が一定になるまで電子レンジで数分間の乾燥と秤量(C)を繰り返す（目安：200W×3回）．（所要時間の目安：20分）

(7) 重量測定した残さの入ったコーヒーフィルターをステンレス灰皿に乗せ，ガスコンロ（強火）上で燃やし，コーヒーフィルターごと炭化する．（所要時間の目安：2分）

(8) 灰をスプーンでつぶしながら混和する．再度，ガスコンロ（強火）上で5分間加熱する．この混和，加熱を3回行う．（所要時間の目安：20分）

(9) ガスコンロからステンレス灰皿を下ろし，3分間放冷後，素早くはけ等で灰をかき出して灰分重量（D）を測定する．（所要時間の目安：5分）

(10) 風乾物中の推定NDF（%）＝（C－B－D）／A×100－4

－4は常法分析値との関係から求めた補正値

4. 簡易推定法の精度

供試した全試料で，開発した簡易推定法（食品用ミルで粉砕し本法で推定）により得られた推定値と常法（1mmの篩を通るように粉砕し常法で測定）による分析値を比較し，簡易推定法の精度を評価した．風乾物中のNDF（%）を比較すると，図3に示すように簡易推定値と常法値の標準誤差は粗飼料で1.8%，濃厚飼料で3.4%であり，飼料中NDF含量の簡易推定法として十分な精度
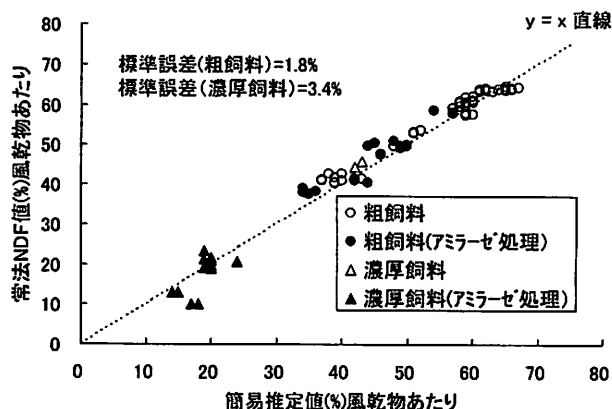
図3 NDF(%)の簡易推定法の精度（風乾物あたり）
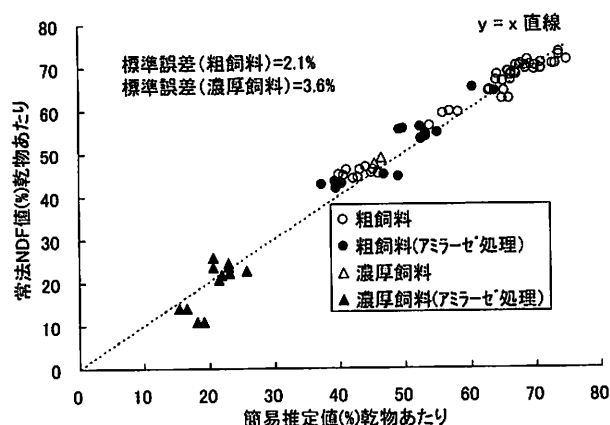
図4　NDF(%)の簡易推定法の精度（乾物あたり）

であった．

また，各試料の粉砕後の乾物率から求めた乾物中のNDF（%）で比較しても図4に示すように簡易推定値と常法値の標準誤差は粗飼料で2.1%，濃厚飼料で3.6%となり，飼料中NDF含量の簡易推定法として風乾物中と同様に高い精度で推定できた．

5. 簡易推定法の留意点

(1) 測定に用いる試料量は少量のため，サンプリングは試料の全体を反映するように留意して行うこと．

(2) 脱気から加圧，放冷までは高温や高圧を伴うので手袋等を着用し，安全面に配慮する．
また，使用前には圧力鍋，保存ビンに異常が無いか確認し，各器具の取扱説明書をよく読んで使用する．

(3) 電子レンジは同じ出力でも機種により乾燥速度が異なるので，簡易推定方法で示した加熱時間は目安とし，コーヒーフィルターや試料が焦げないように注意して乾燥させる．

(4) 本法で使用する器具類はこのような利用場面は想定されていない．そのため本法での使用はあくまで自己責任で行う．

6. 簡易推定法の特徴と活用面

常法では分析に約2日間を必要とするのに比べ，簡易推定法の所要時間は約160分であり，大幅に時間の短縮が図られる．また，繊維自動抽出装置等の専用機器を使わずに，保存ビン，圧力鍋，電子レンジ，コーヒーフィルター等の安価な家庭用品を使用して分析でき，アミラーゼ処理に要する時間やND溶液に使用する試薬の種類も大幅に削減できる．

本法は0.01g秤量の秤，電子レンジ，ガスコンロを必要とするが，これらの設備をもつ普及指導機関等で活用可能である．

文　献

農業・食品産業技術総合研究機構　編．2006．日本飼養標準　乳牛（2006年）．pp. 86 − 91．中央畜産会，東京．

自給飼料品質評価研究会　編．2001．改訂粗飼料の品質評価ガイドブック．pp. 12 − 13．日本草地畜産種子協会，東京．

安藤義昭・小柳　渉．2005．酸性デタージェント繊維（ADF）の簡易迅速推定法．関東東海北陸農業研究成果情報　平成16年度Ⅰ，206 − 207．

飼料分析基準研究会編　著．2004．飼料分析法解説2004．pp. 3 − 24．日本科学飼料協会，東京．